

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАРДИАЛЬНЫХ ТРОПОНИНОВ ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНЫМИ МЕТОДАМИ

А. А. Кишкун

АНО Центральный научно-исследовательский институт трансфузионной медицины и медицинской техники, г. Москва, Россия

Резюме

Кардиальные тропонины (сТн) I или T являются предпочтительными биомаркерами для выявления повреждения миокарда и ключевыми в диагностике и определении прогноза острого инфаркта миокарда. В статье представлен анализ методических проблем исследования кардиальных тропонинов, включая особенности высокочувствительных методов определения сТн, аналитических аспектов реагентов, определения параметров обозначения высокой чувствительности, методов обеспечения качества результатов анализа и выявления причин интерференции.

Ключевые слова: инфаркт миокарда, высокочувствительный метод определения кардиального тропонина, методы определения, интерференция.

DOI: 10.58953/15621790_2024_15_3-4_83

METHODOLOGICAL PROBLEMS OF STUDYING CARDIAC TROPONINS BY HIGHLY SENSITIVE METHODS

A. A. Kishkun

ANO Central Research Institute of Transfusion Medicine and Medical Equipment, Moscow, Russia

Summary

Cardiac troponins (cTn) I or T are the preferred biomarkers for detecting myocardial injury and are key in the diagnosis and determination of the prognosis of acute myocardial infarction. The article presents an analysis of methodological problems in the study of high-sensitivity cardiac troponins, including features of methods for determining cTn, analytical aspects of kits, determining parameters for designating high sensitivity, methods for ensuring the quality of analysis results and identifying the causes of interference.

Keywords: myocardial infarction, high-sensitivity cardiac troponin, determination methods, interference.

Сердечно-сосудистые заболевания остаются главной причиной смертности в нашей стране. Наиболее клинически и прогностически тяжелой формой сердечно-сосудистых заболеваний, сопровождающейся высокой летальностью и инвалидизацией, остаётся инфаркт миокарда, на который приходится 20% смертности населения России [1]. Профессиональными врачебными сообществами разработаны клинические рекомендации (руководства) в отношении ведения пациентов с инфарктом миокарда, в основу которых положены принципы доказательной медицины. Согласно современным клиническим рекомендациям, кардиальные тропонины (сТн) I или T являются предпочтительными биомаркерами для выявления повреждения миокарда и ключевыми в диагностике и определении прогноза острого ин-

фаркта миокарда (ОИМ), особенно при инфаркте миокарда без подъёма сегмента ST [2].

В настоящее время определение сТн высокочувствительными методами является клинически самым эффективным и ценным лабораторным тестом. Вместе с тем, существует целый ряд методических и диагностических проблем, связанных с аналитическими особенностями лабораторного исследования сТн, оценкой полученных результатов и их использованием в диагностических целях. Точная количественная оценка этих биомаркеров посредством детального понимания аналитических и клинических характеристик доступных реагентов имеет решающее значение для предотвращения ошибочных результатов, которые потенциально могут привести к неправильному диагнозу и лечению пациентов

с подозрением на ОИМ [3]. Несмотря на то, что эти проблемы рассматриваются раздельно, в действительности они тесно взаимосвязаны. Врачи клинической лабораторной диагностики должны знать эти проблемы, понимать их сущность и объяснять их значение врачам-клиницистам в целях правильного использования результатов определения кардиальных тропонинов в клинической практике.

Методические проблемы применения высокочувствительных методик (high sensitive – hs) для определения концентрации кардиальных тропонинов включают особенности методов определения сTn, аналитических аспектов реагентов, определения параметров обозначения высокой чувствительности (hs), методов обеспечения качества результатов анализа и выявления причин интерференции.

Методы и аналитические характеристики реагентов для определения hs-cTn¹

Почти все тесты для определения hs-cTn основаны на использовании метода иммуноферментного (иммунохемилюминисцентного) анализа. Кардиальный тропонин – достаточно крупный белок, имеющий несколько эпитопов. Моноклональные антитела, используемые в наборах реагентов, по-разному взаимодействуют с различными эпитопами тропонина, что в значительной степени и предопределяет аналитическую чувствительность и специфичность методики. В большинстве тестов антитела захвата представляют собой моноклональные антитела, специфичные для определяемого белка – сTnI либо сTnT [4]. Часто в наборах для определения сTn используют более двух антител, чтобы увеличить количество захваченного и помеченного белка. Каждая методика отличается, потому что антитела, используемые в тестах, различны. Чувствительность методик для определения тропонина по отношению к таким интерферирующим факторам, как гетерофильные антитела, ревматоидный фактор и др. также могут варьировать в значительном диапазоне. По этой причине, а также из-за различных способов обнаружения и калибровки, результаты одной методики для определения сTn не согласуются с результатами других. Нельзя заменить результаты определения сTn одним набором реагентов результатами другого. В конечном итоге, всегда необходимо иметь в виду, что высокочувствительные тесты для определения кардиальных тропонинов разных про-

изводителей имеют различную чувствительность.

В отношении аналитических аспектов наборов для определения hs-cTn используют следующие характеристики:

- коэффициент вариации (CV) – является мерой воспроизводимости (или точности) анализа и рассчитывается как отношение стандартного отклонения к среднему значению для повторного тестирования одной и той же сыворотки крови; в идеале это значение должно быть 10% или меньше;
- предел обнаружения или аналитическая чувствительность (limit of detection – LoD) – наименьшее значение сTn, которое можно измерить при постепенном разбавлении пробы сыворотки; другими словами, это самая низкая концентрация сTn, которую достоверно можно выявить в сыворотке, содержащей низкую концентрацию сTn. Этот термин приобрел дополнительное значение, поскольку критерии высокочувствительного анализа теперь требуют, чтобы по крайней мере 50% здоровых мужчин и 50% здоровых женщин имели определяемое значение выше этого уровня; чем выше чувствительность – тем у большего процента здоровых лиц обнаруживается сTn (Табл. 1) [5].
- предел количественного определения (limit of quantitation – LoQ) или функциональная чувствительность – это минимальная концентрация сTn, при которой коэффициент аналитической вариации методики составляет ≤10%. Чем более чувствителен и точен анализ, тем ниже будет предел количественного определения; однако для всех методик для определения hs-cTn он будет выше предела обнаружения.

Таблица 1.
Чувствительность наборов реагентов для определения hs-cTn

Доля здоровых лиц с определяемым сTn, %	Название теста	Уровень чувствительности
<50	современный чувствительный	уровень 1
50–75	hs первого поколения	уровень 2
75–95	hs второго поколения	уровень 3
>95	hs третьего поколения	уровень 4
~99–100	hs новейшего поколения	уровень 5

¹ hs-cTn - определение сTn высокочувствительными методами

Для определения hs-cTn необходимо использовать наборы реагентов, способные определять значения, равные или превышающие предел количественного определения;

- предел бланка (limit of blank — LoB) — оценка шума в системе анализа для определения концентрации hs-cTn или наименьшее значение, которое можно отличить от нуля; оно оценивается как верхний 95-перцентиль наблюдаемых значений при повторных измерениях холостого образца. Другими словами, это самая высокая кажущаяся концентрация cTn, ожидаемая при проведении нескольких анализов образца, не содержащего cTn;
- верхний референсный предел — верхняя граница значений hs-cTn в нормальной популяции населения. Для cTn это определяется как 99-перцентиль нормального распределения, что составляет примерно 3 стандартных отклонения от среднего значения. Следует понимать, что 99-перцентиль — это уровень hs-cTn при котором 99 из 100 лиц здоровой популяции будут иметь значения ниже верхнего референсного предела и только 1 из 100 выше 99-перцентиля.

Какие наборы реагентов для определения cTn являются высокочувствительными?

Первоначальные методики для определения уровня cTn в крови были мало чувствительными в отношении их способности обнаруживать присутствие тропонина. Как правило, результаты сообщались в мкг/мл. По мере повышения чувствительности методик количество начальных нулей, которые были бы необходимы для сообщения об очень низких обнаруживаемых значениях, существенно увеличилось. Такие методики для определения уровня cTn получили название высоко(ультра) чувствительные (high sensitive — hs) тесты. Они способны определять очень низкие концентрации тропонинов в сыворотке крови, составляющие от 1 до 20 нг/л. Таким образом, успехи в изучении эпитопов тропонинов, их генно-инженерных модификаций и новых способов их детекции, привели к разработке методов, чувствительность которых повышена в 1000–10000 раз и теперь нижний предел определения (НПО или аналитическая чувствительность) тропонинов может достигать 90 пкг/л.

В настоящее время в отношении тестов для определения концентрации кардиальных тропонинов употребляются термины: 1) тесты пятого поколения, 2) чувствительный, 3) высокочувствительный, 4) ультрачувствительный. Сущность этих названий тесно взаимосвязана с реальными аналитическими характеристиками методик, используемых производителями разных наборов реагентов. Поэтому для выяснения

этой сущности необходимо ознакомиться с инструкцией, приложенной к соответствующему набору. Различные тесты для определения концентрации кардиальных тропонинов существенно различаются по своей способности точно измерять низкие уровни тропонина в здоровой популяции.

Критерии определения того, какие тесты для определения cTn являются высокочувствительными, были предложены Международной федерацией клинической химии в 2015 году [6]. Обозначение высокой чувствительности (hs) было присвоено тестам, которые способны:

- измерять концентрации cTn точно на уровне 99-го перцентиля или ниже;
- аналитическая чувствительность методики определяется процентом 50% или более обнаруживаемых значений выше предела обнаружения (LoD) в здоровой референсной популяции у обоих полов;
- обладать минимальной неточностью с коэффициентом вариации (CV) $\leq 10\%$ при значении 99-го перцентиля, т.е. концентрации тропонинов, определяемые с $CV \leq 10\%$ должны быть значительно ниже значений 99-го перцентиля для здоровой популяции; чем ниже значения CV, тем меньше отличия при повторных измерениях в одном и том же образце, тем выше точность и тем меньше ложноположительных результатов.

Предыдущие (старые) наборы для определения cTn не обладают аналитическими характеристиками, способными достичь этих целей, поскольку не способны либо обнаруживать концентрации на уровне 99-го перцентиля или ниже, либо обнаруживают cTn с неточностью более 10%. Прежние методики не способны точно определить концентрации cTn ниже 99-перцентиля, которые выявляют у практически здоровых людей. Наличие cTn в крови здоровых людей, выявляемых с помощью высокочувствительных тестов, факт неопровержимый и многократно проверенный. Высокочувствительные тесты для определения уровня cTn имеют два принципиальных преимущества по сравнению с прежними тестами: 1) выявляют тропонины у здоровых лиц и 2) позволяют точно определить, что такое «нормальный» уровень тропонинов (99-й перцентиль). Высокочувствительные наборы реагентов для определения cTn доступны для лабораторий с 2009 года.

Например, высокочувствительные тесты для определения cTnT на анализаторе Cobas e411 имеют предел бланка 3 нг/л, предел обнаружения — 5 нг/л, 10% CV — 13 нг/л, пороговое значение 99-го перцентиля — 14 нг/л [7]. Для анализатора ARCHITECT i2000SR фирмы Abbott Diagnostics предел бланка тестов для определения hs-cTnI составляет 0,7–1,3 нг/л, предел

обнаружения 1,1–1,9 нг/л, предел количественного определения – 4,7 нг/л, 99-й процентиль при 10% CV – 19 нг/л [8].

В таблице 2 приведены аналитические характеристики четырех полностью автоматизированных высокочувствительных методик для определения hs-cTn [9–11].

Таблица 2.

Аналитические характеристики тестов для высокочувствительного измерения концентрации кардиальных тропонинов

Производитель	Тропонин	Аналитическая система	LoB, нг/л	LoD, нг/л	CV 10%, нг/л	99-й процентиль, нг/л	Измеримые значения >LoD, %
Beckman Coulter	cTnI	Access	0,1	0,3	1,3	16	97
Siemens	cTnI	ADVIA Centaur	0,5	2,2	2,7	48	80–95
Abbott	cTnI	Architect	0,7–1,3	1,1–1,9	5,6	19	57–75
Roche	cTnT	ELECSYS	3,0	5,0	12	14	32–42

Реагенты для определения hs-TnI и hs-TnT имеют значения LoD обычно от 1 до 3 нг/л (Табл. 2), что соответствует содержанию тропонина в миокарде около 5–8 мг, а 99-й процентиль (порог диагностики повреждения миокарда) соответствует содержанию 30–40 мг в миокарде [12]. Повреждение миокарда, затрагивающее несколько мг ткани, значительно ниже предела обнаружения эхокардиографии или других методов визуализации сердца [13].

В идеале системы для определения hs-cTn должны были бы иметь те же пороговые значения, что и реагенты предыдущих поколений. В действительности это не так. Например, для hs-cTnT значение 0,01 нг/мл в наборах четвертого поколения соответствует значению 30 нг/л, а значение 0,03 нг/мл – 52 нг/л [14]. Однако значения выше 100 нг/л при определении hs-cTnT хорошо коррелируют со значениями, полученными реагентами четвертого поколения, за исключением изменения в единицах от нг/л hs-cTnT по сравнению с нг/мл для реагентов предыдущих поколений. Таким образом, значение 0,1 нг/мл эквивалентно значению 100 нг/л для определения hs-cTnT. Для большинства исследований hs-сердечного тропонина I (hs-cTnI) необходимо использовать новые пороговые значения, которые отличаются от таковых для тестов предыдущего поколения.

Приведенные в таблице 2 аналитические системы для определения hs-cTn достаточно давно и широко используются в практике лабораторий нашей страны. В профессиональной литературе опубли-

ковано большое количество данных аналитических характеристик этих аналитических систем. В последнее время для лабораторий стали доступны реагенты других производителей. В таблице 3 приведены пределы бланка (LoB), обнаружения (LoD) и предел количественного определения (LoQ) при значениях 10 нг/л для иммунохемилюминесцент-

ного метода CLIA hs-cTnI производителя Mindray Bio-Medical (Китай) [15].

Таблица 3.

Аналитические характеристики набора реагентов CLIA hs-cTnI (Mindray Bio-Medical, Китай)

	LoB, нг/л	LoD, нг/л	LoQ 10%, нг/л
Li L. et al. [13]	0,07	0,21	0,51
Производитель CLIA hs-cTnI (Mindray)	0,1–0,5	0,5–0,7	1,1–2,4

Данные, полученные L. Li и соавт. [15] об аналитических характеристиках метода CLIA hs-cTnI Mindray значительно ниже, чем данные, сообщенные производителем, а также данных в отношении систем других производителей (Табл. 1). Представленные результаты свидетельствуют с одной стороны о высокой аналитической чувствительности метода CLIA hs-cTnI (Mindray), с другой – требуют подтверждения и более детального изучения.

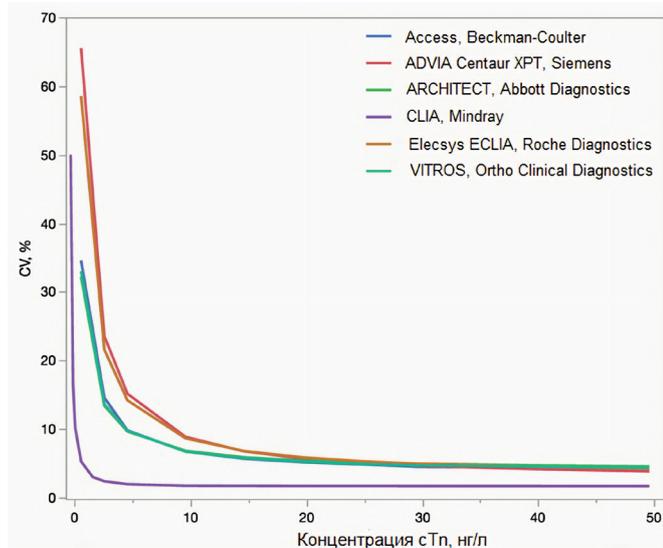
Оптимизация аналитического качества исследований

Диагностическая точность протоколов быстрого подтверждения или исключения ОИМ тесно связана с аналитическими характеристиками реагентов для определения hs-cTnI и hs-cTnT в диапазоне низких концентраций. Профили неточностей (аналитической вариации) нового метода CLIA hs-cTnI производителя Mindray по сравнению с методами иммунохе-

милюминесцентного анализа 4-го поколения hs-cTnI и hs-cTnT приведены на рисунке 1 [16]. Аналитические системы включают: Access hs-cTnI (Beckman-Coulter Diagnostics), ADVIA Centaur XPT hs-cTnI (Siemens Healthcare Diagnostics Inc.), ARCHITECT hs-cTnI (Abbott Diagnostics), Mindray Bio-Medical CL-1200i CLIA hs-cTnI (Mindray), Elecsys ECLIA hs-cTnT (Roche Diagnostics Mannheim) и VITROS hs-cTnI (Ortho Clinical Diagnostics).

Рисунок 1.

Зависимость аналитической вариации и концентраций hs-cTnI и hs-cTnT для реагентов различных производителей



Для значений hs-cTn в диапазоне от предела обнаружения до значений кратных верхнему значению 99-го перцентиля, клиническое решение в отношении диагностики ОИМ может быть принято на основе повторного тестирования hs-cTn через 1, 2 или 3 ч, в зависимости от используемого протокола (Рис. 2) [17].

Алгоритм принятия решений для оптимального использования hs-cTn у пациентов с подозрением на ОИМ

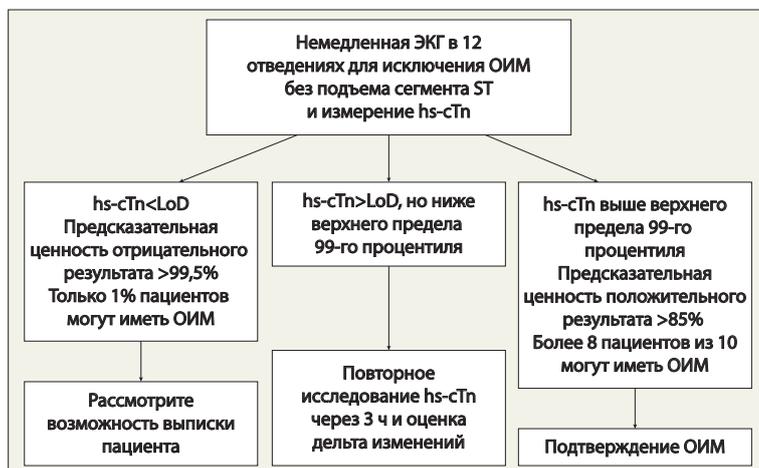


Рисунок 2.

Верхнее значение 99-го перцентиля для hs-cTn служит в качестве порога принятия клинического решения о наличии повреждения миокарда и должно определяться для каждой конкретной методики с помощью материалов контроля качества, подтверждающих соответствующую неточность анализа. Точная калибровка для анализа hs-cTn в низком диапазоне концентраций и низкая аналитическая вариация имеют первостепенное значение, поскольку даже относительно небольшие изменения в характеристиках анализа на практике могут значительно повлиять на долю пациентов, которые выписаны домой, поскольку у них не выявлен ОИМ.

Проблема требует от лабораторий проведения дополнительных мероприятий для обеспечения надлежащего качества измерений hs-cTn. Подходы, которые необходимо использовать лабораториям для проверки аналитических характеристик реагентов для определения hs-cTn в нижней части 99-го перцентиля включают [18]:

- исследование контрольного материала или пула сывороток пациентов с концентрацией hs-cTn, близкой к пределу обнаружения методики, для мониторинга дрейфа базовой линии после калибровки;
- исследование контрольного материала низкого уровня с концентрацией cTn, близкой к верхнему референсному пределу 99-го перцентиля, для мониторинга вариабельности методики на этом уровне принятия решения;
- частота калибровки определяется на основе характеристик неточности и дрейфа анализа.

Проверка калибровки означает анализ контрольных материалов известной концентрации (внутрилабораторный контроль качества — ВКК) для подтверждения приемлемости настройки измерительной системы и, следовательно, результатов пациента. Однако контрольные материалы для hs-cTn, предлагаемые производителями вместе с реагентами для определения hs-cTn, обычно не охватывают низкие концентрации cTn, что делает анализ уязвимым для потенциальных дрейфов, которые могут остаться незамеченными.

В своем исследовании E. Aloisio и соавт. [19] показали, что ежедневный контроль качества с использованием собственного пула сывороток с концентрацией cTn, близкой к пределу обнаружения (LoD), в качестве дополнительного контрольного материала, помимо контрольных материалов, предлагаемых производителем, улучшил точность измерения hs-cTn при низких, но клинически значимых концентрациях.

Вместе с тем, ВКК при определении hs-cTn должен быть нацелен на исследование контроль-

ного материала с концентрацией сТп, соответствующей верхнему референсному пределу 99-го перцентиля. На основании результатов ВКК исследования контрольного материала с концентрацией сТп, соответствующей верхнему референсному пределу 99-го перцентиля, лаборатория должна рассчитать аналитическую вариацию (CV). Эта информация должна быть получена в течение определенного периода (например, 6 мес подряд), достаточного для регистрации большинства изменений условий измерения и систематических источников неопределенности, вызванных различными партиями реагентов, различными калибровками или условиями окружающей среды. Желаемой целью является неопределенность измерения (CV) $\leq 10\%$ при концентрации сТп в контрольном материале, соответствующей верхнему референсному пределу 99-го перцентиля.

А. Луон и соавт. [20] оценили комбинированное влияние варибельности и систематической ошибки анализа hs-сТп на количество ложноположительных и ложноотрицательных результатов диагностики ОИМ с использованием имитационных моделей при 99-м перцентиле. Частота ложноположительных результатов около 1% была получена, когда CV поддерживали на уровне около 10%.

Если при ВКК обнаруживается погрешность более $\pm 10\%$, для её исправления необходимо провести перенастройку измерительной системы анализатора (повторную калибровку). Если погрешность сохраняется, следует попросить производителя провести немедленное расследование и, в конечном итоге, устранить проблему с помощью корректирующих действий, например, провести переоценку калибраторов для исправления обнаруженной погрешности.

Влияние интерференции

Результаты определения уровня hs-сТп, полученные при исследовании плазмы и сыворотки крови могут различаться. Плазма обычно является предпочтительным материалом для обеспечения своевременности получения результатов анализа у пациентов с подозрением на ОИМ. Исследование плазмы сокращает время подготовки пробы крови к анализу вследствие устранения времени для свертывания крови и позволяет избежать потенциальных проблем, связанных с удлинением времени свертывания крови у пациентов, получающих антикоагулянтную терапию или с нарушениями свертывания крови (например, при печёночной недостаточности). Использование сыворотки также имеет ограничения, связанные с возможным наличием сгустков фибрина из-за недостаточного центрифугирования пробирки или центрифугирования до ретракции сгустка.

Результаты многоцентрового исследования при определении уровня hs-сТпТ показали среднюю разницу в -4% значений сТпТ при сравнении плазмы, (антикоагулянт литий-гепарин) и сыворотки [21]. В отношении hs-сТп I различие в концентрациях составляли $-5,7\%$ между сывороткой и плазмой с ЭДТА и $17,4\%$ между сывороткой и плазмой с литий-гепарином [9].

Однако производители реагентов в инструкциях указывают, что для определения hs-Тп подходят как сыворотка, так и плазма (гепарин и ЭДТА), просто сообщая, что типы образцов не взаимозаменяемы. Таким образом, аналитическое влияние используемых для анализа проб крови (сыворотка или плазма) может быть заметным и требует проверки и, что более важно, переопределения клинических порогов (верхнего референсного предела 99-го перцентиля), характерных для каждого используемого образца.

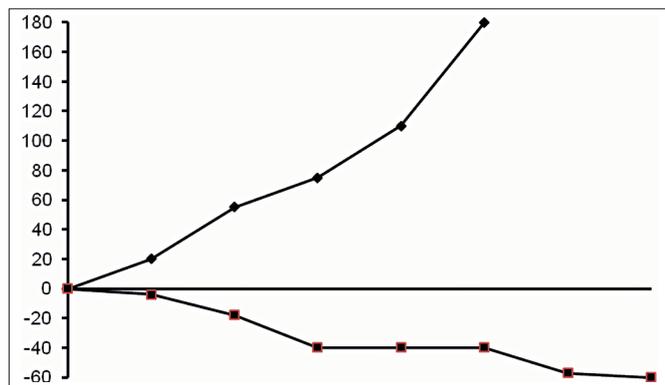
Существует множество причин ложноположительных и ложноотрицательных результатов определения hs-сТп. Одной из причин ложных результатов определения hs-сТп является наличие гемолиза в анализируемых пробах крови. При гемолизе можно получить ложно заниженные значения при использовании реагентов для определения hs-сТпТ или ложно повышенные значения при определении hs-сТпI [20]. Гемолиз может оказывать клинически значимое влияние при низкой концентрации тропонина у пациента, близкой к пределу принятия решения (близких к 99-му перцентилю), когда значения тропонина могут быть ложно низкими (hs-сТпТ) или высокими (большинство анализов hs-сТпI) по сравнению с более высокими концентрациями тропонина, когда значения остаются положительными несмотря на влияние гемолиза.

На рисунке 3 приведены данные о влиянии гемолиза на уровень hs-сТп [22]. Измерение индекса гемолиза (HI) в ряде анализаторов выполняется автоматически. При количественном измерении индекса гемолиза результат отражает содержание свободного гемоглобина в сыворотке или плазме, выраженное в мг/дл. Обычно в анализаторах значение 10 HI соответствует концентрации гемоглобина 10 мг/дл. Индекс гемолиза выше 50 мг/дл относится к гемолизу, видимому глазом. Минимальное значение гемолиза, способное потенциально повлиять на результаты исследований у пациента, составляет 10 мг/дл.

Наиболее частой причиной ложноположительных результатов определения hs-сТп является присутствие перекрестно реагирующих и гетерофильных антител в крови пациентов. Перекрестно реагирующие антитела могут связываться с несколькими различными антигенными детерминантами, т.е. способны к полиспе-

Рисунок 3.

Влияние гемолиза на уровень hs-Tn в зависимости от индекса гемолиза [22]



цифическому связыванию. Гетерофильные антитела могут взаимодействовать с иммуноглобулинами различных видов животных. Если в иммунохимических тестах используют реактивы содержащие, например, антитела мыши, то результаты тестов могут быть искажены. Помехи от гетерофильных антител несколько чаще встречаются при использовании обычных (не высокочувствительных) систем для определения. Гетерофильные антитела представляют собой антитела к иммуноглобулинам G и встречаются у <0,5% населения [23].

В ряде случаев ложноположительные результаты hs-cTn могут быть вызваны макротропоновиными комплексами, присутствующими в крови пациентов (например, комплексами иммуноглобулин-cTn) [24]. С аналогичными ситуациями специалисты лаборатории сталкиваются при определении активности α-амилазы (макроамилаземия), МВ-фракции креатинкиназы (макрокреатинкиназа) и уровня пролактина (макропролактинемия). Это явление встречается обычно у пожилых пациентов, и является показателем наличия хронических заболеваний.

Если подозревается повышенное значение сTn вследствие вмешательства перекрестно реагирующих и гетерофильных антител в анализ или присутствия макротропонина, лаборатория может использовать различные подходы для решения этой проблемы. Первый заключается в использовании дополнительных блокирующих антител, которые связывают перекрестно реагирующие и гетерофильные антитела. Этот подход не исключает макротропоновиные комплексы. Для их исключения требуется использовать хроматографические разделительные колонки для удаления комплекса иммуноглобулинов и тропонина. Вторым подходом основан на разбавлении исследуемой сыворотки крови. При наличии мешающего вещества в сыворотке, она разбавляется до тех пор, пока мешающее вещество не исчезнет, после чего значения сTn резко

падают. Этот подход может быть использован всеми лабораториями.

Кроме того, в ряде систем для определения сTn присутствуют антитела к тропонину, которые изначально считались специфичными для сTnI. Однако в дальнейшем было установлено, что они связываются с комплексом, состоящим из тропонина Т, тропонина I и тропонина С, который является одним из многочисленных высвобождаемых фрагментов тропонина при повреждении миокарда [25]. При использовании таких реагентов результаты определения уровня как сTnI, так и сTnT могут быть повышены. Обычно такие результаты не меняют диагностического значения, потому что комплекс тропонина Т, тропонина I и тропонина С является лишь одним из ряда белков, которые высвобождаются в ответ на повреждение миокарда.

В редких случаях ложноположительные результаты определения сTnT связаны с патологией скелетных мышц при которой происходит реэкспрессия фетальных изоформ сTnT в ответ на заболевание. При заболеваниях скелетных мышц значения сTnT стабильны, а не динамичны, как при ИМ.

Проведенные исследования показали, что сTnI не обнаруживается лабораторными тестами вне сердца на любой стадии неонатального развития [26]. Напротив, сTnT экспрессируется в незначительной степени в скелетных мышцах. Поэтому по крайней мере у некоторых пациентов с хроническим заболеванием скелетных мышц лабораторные тесты для определения сTnT обнаруживают тропонин Т. Это означает, что у части пациентов скелетные мышцы могут быть источником повышения уровня сTnT [27]. Данные некоторых публикаций свидетельствуют, что это может быть более распространенным явлением, чем считалось ранее [28]. У большинства (но не у всех) пациентов с заболеванием скелетных мышц типичный подъем и падение сTnT при ИМ не наблюдается. Кроме того, следует заподозрить хроническое заболевание скелетных мышц как причину повышения сTnT, если значение сTnI у того же пациента находится в пределах «нормы».

При оценке результатов исследования сTn следует учитывать еще одну причину интерференции. Многие системы для исследования сTn используют биотинилированные антитела. Биотин не синтезируется в организме человека, а поступает в составе различных пищевых продуктов. Нормальное поступление биотина из различных продуктов и молока не влияет на иммуноанализ на основе стрептавидина/биотина. Однако чрезмерное потребление биотина (суточная доза 100–300 мг) представляет собой серьезную проблему для иммуноанализа. Биотин все чаще назначают бе-

ременным, препарат входит в состав витаминов и пищевых добавок. Прием большого количества биотина беременными может приводить к ложноположительным результатам определения тропонина. Биотин быстро выводится из крови и обычно не обнаруживается в течение 6–8 ч при отсутствии почечной недостаточности. Фактор биотина необходимо учитывать при использовании любых методик иммуноанализа на основе стрептавидина/биотина, т.е. не только для определения сТп, но и гормонов.

Каждая методика для определения hs-cTn по-разному чувствительна к упомянутым источникам ошибок, и эта изменчивость может вызвать некоторые расхождения между результатами определения сТп. Однако следует отметить, что случаи ложноположительных и ложноотрицательных результатов hs-cTn являются достаточно редкими (<0,5%) [29].

Заключение

Основная цель реагентов для оценки hs-cTn заключается в способности количественно определять низкие концентрации сТп. При низких концентрациях hs-cTn для клинической практики очень важны аналитические аспекты систем для определения hs-cTn и в первую очередь аналитическая вариация для достижения точности $\leq 10\%$ на верхних значениях 99-го перцентиля.

Наборы реагентов для определения сТnI не стандартизированы. Результаты анализов могут сильно различаться по уровням маркера в одном и том же образце у разных производителей. Всегда будут некоторые различия из-за различных форм сТnI, которые присутствуют в плазме крови, из-за того, что моноклональные антитела, присутствующие в системах, распознают разные сайты сТnI в различной степени. Это различие между определением сТnI, вероятно, сохранится и в будущем.

Существует только один производитель реагентов для анализа hs-cTnT. Однако даже в отношении этих систем корректировки калибровочной кривой вызвали существенное увеличение концентраций на более низких уровнях, и существует неопределённость в отношении того, как эти изменения могут повлиять на верхний предел 99-го перцентиля для этого исследования.

В настоящее время наблюдается приход в практику лабораторий реагентов для исследования hs-cTn ранее неизвестных производителей, что в значительной степени обострит проблему их аналитических характеристик и влияния факторов интерференции. Специалисты лаборатории должны поддерживать CV для определения hs-cTn на уровне около 10%, используя для этого инструменты ВКК, и дополнительный пул

сыворотки с концентрацией сТп, близкой к пределу обнаружения (LoD).

Выявить влияние интерференции на результаты исследования hs-cTn прерогатива специалиста лаборатории. Поэтому прежде, чем отправить результаты определения hs-cTn врачу-клиницисту, необходимо оценить возможное присутствие интерферирующего фактора, выполнить корректирующие процедуры и провести повторное исследование. Врачам лаборатории следует обращать самое пристальное внимание на методические аспекты используемых для определения hs-cTn реагентов, для получения клинически достоверных результатов.

Список литературы

1. Бойцов С.А., Шахнович Р.М., Эрлих А.Д. и др. Регистр острого инфаркта миокарда. РЕГИОН-ИМ - Российский регистр острого инфаркта миокарда // Кардиология. - 2021. - №6. - С. 41-51.
2. Collet J-P., Thiele H., Barbato E. et al. 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation // Eur. Heart. J. - 2021. - Vol. 42. - P. 1289-1367.
3. Krintus M., Panteghini M. Laboratory-related issues in the measurement of cardiac troponins with highly sensitive assays // Clin. Chem. Lab. Med. - 2020. - Vol. 58. - P. 1773-1783.
4. Wu A., Christenson R., Greene D. et al. Clinical Laboratory Practice Recommendations for the Use of Cardiac Troponin in Acute Coronary Syndrome: Expert Opinion from the Academy of the American Association for Clinical Chemistry and the Task Force on Clinical Applications of Cardiac Bio-Markers of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine // Clin. Chem. - 2018. - Vol. 64. - P. 645-655.
5. Lippi G., Sanchis-Gomar F. «Ultra-sensitive» cardiac troponins: Requirements for effective implementation in clinical practice // Biochem Med (Загреб). 2018, 15 октября; 28(3): 030501. DOI: 10.11613/BM.2018.030501.
6. Apple F., Jaffe A., Collinson P. et al. IFCC educational materials on selected analytical and clinical applications of high sensitivity cardiac troponin assays // Clin. Biochem. - 2015. - Vol. 48. - P. 201-203.
7. Giannitsis E., Kurz K., Hallermayer K. et al. Analytical validation of a high-sensitivity cardiac troponin t assay // Clin. Chem. - 2010. - Vol. 56. - P. 254-261.
8. Clerico A., Zaninotto M., Ripoli A. et al. The 99th percentile of reference population for

ctni and ctnt assay: Methodology, pathophysiology and clinical implications // *Clin. Chem. Lab. Med.* - 2017. - Vol.55. - P. 1634-1651.

9. Krintus M., Kozinski M., Boudry P. et al. European multicenter analytical evaluation of the Abbott ARCHITECT STAT high sensitive troponin I immunoassay // *Clin. Chem. Lab. Med.* - 2014. - Vol. 52. - P. 1657-1665.

10. Lippi G., Ferrari A., Gandini G. et al. Analytical evaluation of the new Beckman Coulter Access high sensitivity cardiac troponin I immunoassay // *Clin. Chem. Lab. Med.* - 2017. - Vol. 56. - P. 157-161.

11. Payne R., Halik L., DiPasquale C. et al. Performance evaluation of the high sensitivity cardiac troponin I assay on the ADVIA Centaur XP/XPT immunoassay systems // *European Heart Journal*, Volume 38, Issue suppl_1, August 2017, ehx502.P2754. DOI:10.1093/eurheartj/ehx502.P2754

12. Clerico A., Zaninotto M., Padoan A. et al. Evaluation of analytical performance of immunoassay methods for cTnI and cTnT: from theory to practice // *Adv. Clin. Chem.* - 2019. - Vol. 93. - P. 239-262.

13. Mair J., Lindahl B., Hammarsten O. et al. How is cardiac troponin re-released from injured myocardium // *Eur. Heart. J. Acute. Cardiovasc. Care.* - 2018. - Vol. 7. - P. 553-560.

14. Saenger A., Beyrau R., Braun S. et al. Multicenter analytical evaluation of a high-sensitivity troponin T assay // *Clin. Chim. Acta.* - 2011. - Vol. 412. - P. 748-754.

15. Li L., Shu X., Zhang L. et al. Evaluation of the analytical and clinical performance of a new high-sensitivity cardiac troponin I assay: hs-cTnI (CLIA) assay // *Clin. Chem. Lab. Med.* - 2023. - Vol. 62. - P. 353-360.

16. Clerico A., Zaninotto M., Plebani M. Rapid rule-in and rule-out protocols of acute myocardial infarction using hs-cTnI and hs-cTnT methods // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. - 2024. - Vol. 62. - P. 213-217.

17. Twerenbold R., Boeddinghaus J., Nestelberger T. et al. How to best use high-sensitivity cardiac troponin in patients with suspected myocardial infarction // *Clin. Biochem.* - 2018. - Vol. 53. - P. 143-155.

18. Panteghini M. How clinical laboratories may improve their performance: the «high-sensitivity» troponin paradigm // *Clin. Chem.* - 2018. - Vol. 64. - P. 621-623.

19. Aloisio E., Pasqualetti S., Dolci A., Panteghini M. Daily monitoring of a control material with a concentration near the limit of detection improves the measurement accuracy of highly sensitive troponin assays // *Clin. Chem. Lab. Med.* - 2020. - Vol. 58. - P. 29-31.

20. Lyon A., Kavsak P., Lyon O. et al. Simulation models of misclassification error for single thresholds of high-sensitivity cardiac troponin I due to assay bias and imprecision // *Clin. Chem.* - 2017. - Vol. 63. - P. 585-592.

21. Saenger A., Beyrau R., Braun S. et al. Multicenter analytical evaluation of a high-sensitivity troponin T assay // *Clin. Chim. Acta.* - 2011. - Vol. 412. - P. 748-754.

22. Bais R. The effect of sample hemolysis on cardiac troponin I and T assays // *Clin. Chem.* - 2010. - Vol. 56. - P. 1357-1359.

23. Mair J., Lindahl B., Müller C. et al. What to do when you question cardiac troponin values // *Eur. Heart. J. Acute Cardiovasc. Care.* - 2018. - Vol. 7. - P. 577-586.

24. Akhtar Z., Dargan J., Gaze D. et al. False-positive troponin elevation due to an immunoglobulin-G-cardiac troponin T complex: a case report // *Eur. Heart J. Case Rep.* - 2020. - Vol. 4. - P. 1-5.

25. Eisen A., Bonaca M., Jarolim P. et al. High-Sensitivity Troponin I in Stable Patients with Atherosclerotic Disease in the TRA 2P - TIMI 50 Trial // *Clin. Chem.* - 2017. - Vol. 63. - P. 307-315.

26. Bodor G., Porterfield D., Voss E. et al. Cardiac troponin-I is not expressed in fetal and healthy or diseased adult human skeletal muscle tissue // *Clin. Chem.* - 1995. - Vol. 41. - P. 1710-1715.

27. Jaffe A., Vasile V., Milone M. et al. Diseased skeletal muscle: a noncardiac source of increased circulating concentrations of cardiac troponin T // *J. Am. Coll. Cardiol.* - 2011. - Vol. 58. - P. 1819-1824.

28. Schmid J., Liesinger L., Birner-Gruenberger R. et al. Elevated Cardiac Troponin T in Patients With Skeletal Myopathies // *J. Am. Coll. Cardiol.* - 2018. - Vol. 71. - P. 1540-1549.

29. Thygesen K., Mair J., Giannitsis E. et al. Study Group on Biomarkers in Cardiology of the ESC Working Group on Acute Cardiac Care. How to use high-sensitivity cardiac troponins in acute cardiac care // *Eur. Heart. J.* - 2012. - Vol. 33. - P. 2252-2257.